昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, January 2013, 56(1): 79 – 87　　ISSN 0454-6296

内蒙古亚洲小车蝗种群遗传多样性的微卫星分析

韩海斌，周晓榕，庞保平*，张敏哲，李海平
（内蒙古农业大学农学院，呼和浩特 010019）

摘要：亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* Bei-Bienko 是我国北方草原和农牧交错区主要的害虫之一。为了从分子水平评价内蒙古地区亚洲小车蝗种群的遗传多样性和种群间遗传分化，本文采用 8 对微卫星引物对内蒙古 15 个地点的亚洲小车蝗种群进行遗传多样性分析。结果表明：各位点有效等位基因数为 3.4517 ~ 13.2881，多态信息含量值为 0.5601 ~ 0.8563，Shannon 氏多样性指数在 0.7018 ~ 4.1789 之间。15 个种群的平均期望杂合度为 0.6836，Nei 氏期望杂合度为 0.5303 ~ 0.6513，群体遗传距离为 0.1092 ~ 0.4235，群体分化率 *Fst* 平均值为 0.1612，基因流 *Nm* 平均值为 1.6164。8 个微卫星位点均具有较高的多态性，各种群间的遗传分化水平较大，基因交流程度中等，个体间的遗传变异大于种群间的遗传变异。15 个不同地点的亚洲小车蝗种群根据遗传距离共聚为 6 支。种群间遗传分化与地理距离呈正相关关系。高山和沙漠对不同地区亚洲小车蝗种群的迁移具有阻碍作用，可能是形成遗传分化的主要原因。研究结果从分子水平探索不同地区亚洲小车蝗种群间的内在联系，为制定亚洲小车蝗的综合治理策略提供了分子生物学的基础资料。

关键词：亚洲小车蝗；地理种群；遗传多样性；微卫星标记；遗传分化；聚类分析
中图分类号：Q968　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2013)01-0079-09

Microsatellite marker analysis of the genetic diversity of *Oedaleus asiaticus* (Orthoptera: Acrididae) populations in Inner Mongolia, northern China

HAN Hai-Bin, ZHOU Xiao-Rong, PANG Bao-Ping*, ZHANG Min-Zhe, LI Hai-Ping (College of Agriculture, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China)

Abstract: *Oedaleus asiaticus* Bei-Bienko is one of the major pest insects in the grasslands and agro-pastoral ecotone in North China. By using 8 microsatellite primer pairs, the genetic diversities of 15 geographic populations of *O. asiaticus* in Inner Mongolia, northern China were analyzed in order to evaluate the genetic variability within populations and genetic differentiation among populations of *O. asiaticus* at the molecular level. The results showed that the effective number of alleles was 3.4517 – 13.2881, the polymorphic information content was 0.5601 – 0.8563 and the Shannon's diversity index was 0.7018 – 4.1789. The mean expected heterozygosity of the 15 populations was 0.6836, with the Nei's expected heterozygosity of 0.5303 – 0.6513 and genetic distance of 0.1092 – 0.4235. The mean fixation index (*Fst*) and the mean gene flow (*Nm*) were 0.1612 and 1.6164, respectively. The 8 microsatellite loci selected are of high polymorphism, this grasshopper keeps a high genetic differentiation and moderate gene flow among populations, and the genetic variability among individuals within a population is higher than that among populations. *O. asiaticus* populations from 15 areas were classified into 6 groups according to the genetic distance. Genetic differentiation between populations shows a positive correlation with geographical distance. High mountains and deserts always block the population migration between areas, which is possibly the main cause of genetic differentiation. The study investigates the intrinsic connection among populations from different areas at the molecular level and provides some basic information on molecular biology for developing integrated management strategies against *O. asiaticus*.

Key words: *Oedaleus asiaticus*; geographic population; genetic diversity; microsatellite marker; genetic differentiation; cluster analysis

基金项目：国家公益性行业（农业）科研专项（200903021）
作者简介：韩海斌，男，1987 年生，内蒙古乌兰察布人，博士研究生，研究方向为昆虫分子生物学，E-mail：hhb.25@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: pangbp@imau.edu.cn
收稿日期 Received: 2012-09-27; 接受日期 Accepted: 2012-12-31

亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus* Bei-Bienko 是我国北方地区的优势种蝗虫(张龙等, 1995), 也是内蒙古草原地区的优势种蝗虫, 主要分布于锡林郭勒盟中西部至鄂尔多斯市东部的典型草原和荒漠草原地区, 占整个蝗虫种群的 50% ~ 60%, 严重发生时能达到 90% 以上, 成为最重要的成灾种(陈素华等, 2007)。该虫主要以禾本科植物为食(关敬群和魏增柱, 1989), 发生为害较早, 发生数量大, 严重危害时可导致受害作物减产 50% 以上, 甚至绝收(许富祯等, 2005)。另一方面, 该虫对草原的危害更为严重, 破坏草原生态系统的生态平衡, 加快了草场退化、沙化速度, 已成为草原退化的指示种(Kang and Chen, 1995)。

遗传多样性是用以衡量一个种、亚种或种群内基因变异性的概念, 是生物多样性的基础, 在生物界中广泛存在: 在一个自然群体中不会有两个遗传背景一致的个体(黄百渠等, 1996), 遗传多样性是物种多样性的主要来源(Slate *et al*., 2002)。遗传多样性是物种长期进化的产物, 是其生存适应和发展进化的必要前提。一个种群或物种的遗传多样性越高或遗传变异度越大, 它对环境变化的适应能力就越强。了解了物种遗传分化的方向, 就能更好地对有害生物进行综合防治。高书晶等(2010)应用等位酶、RAPD(李东伟等, 2010)、线粒体 DNA 上的 ND1 序列(高书晶等, 2011b)和 COⅠ序列(高书晶等, 2011a)对内蒙古 5 个不同地点亚洲小车蝗种群遗传结构及多样性进行了研究, 郃丽华等(2011)运用 RAPD 技术对内蒙古中东部 3 个地点亚洲小车蝗的种群遗传多样性进行了初步研究。

微卫星序列(microsatellite DNA)又称为简单序列重复(simple sequence repeat, SSR)或短串连重复(short tandem repeat), 是核心序列为 1 ~ 6 个寡核苷酸经多次重复形成的串联重复 DNA 序列(Ustinova *et al*., 2006)。微卫星标记由核心序列和两侧保守的侧翼序列构成, 保守的侧翼序列使微卫星特异地定位于染色体某一区域, 核心序列重复数的差异则形成微卫星的高度多态性(高子淇等, 2012)。目前已经成为群体遗传结构和遗传多样性研究中最有效的工具之一。近年来 SSR 分子标记技术已开始应用于昆虫学研究(Hermans *et al*., 2006; Yao *et al*., 2006; Berthier *et al*., 2008; Aguirre *et al*., 2010; 朱翔杰等, 2011; 孙洁茹等, 2011)。因此, 本文首次应用 SSR 标记技术对内蒙古 15 个不同地点亚洲小车蝗种群的遗传多样性及种群间的分化进行分析, 以期揭示不同地区亚洲小车蝗种群间的遗传分化和基因交流程度, 进而从分子水平探索不同地区亚洲小车蝗种群间的内在联系, 为制定亚洲小车蝗的综合治理策略提供必要的基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

供试的亚洲小车蝗采自内蒙古 15 个不同地点的自然种群(表 1), 用养虫笼活体带回实验室后, 单头装入离心管中液氮处理后 -40℃冷冻保存, 每个地点取 20 头蝗虫样本进行分析。

1.2 DNA 的提取

取单头亚洲小车蝗后足股节, 用液氮研磨成粉, 移入 1.5 mL 离心管中, 使用天根 dp304 动物基因组 DNA 提取试剂盒对亚洲小车蝗样本提取 DNA, -20℃保存备用。

1.3 微卫星引物

本文选用来自文献(Zhang *et al*., 2003; Streiff *et al*., 2005; Contreras-Díaz *et al*., 2006; Yao *et al*., 2006; Ustinova *et al*., 2006; Aguirre *et al*., 2010)的 36 对蝗虫微卫星引物, 并交由上海生工合成, 从中筛选出多态性高的 8 对微卫星引物进行研究(表 2)。

1.4 PCR 扩增反应体系和反应条件及产物检测

PCR 反应体系为 20 μL: DNA 模板 1 μL, 10 × PCR Buffer(Mg^{2+} Free) 2.0 μL, $MgCl_2$(25 mmol/L) 1.8 μL, dNTPs Mixture (各 2.5 mmol/L) 2 μL, 上下游引物(10 μmol/L)各 0.8 μL, TaKaRa Taq 聚合酶(5 U/μL) 0.2 μL(大连宝生物工程有限公司), ddH_2O 补足至 20 μL。

反应程序(BIO-RAD PCR 仪): 94℃预变性 5 min; 94℃变性 45 s, 48 ~ 56℃退火 45 s, 72℃延伸 45 s, 共 35 个循环; 72℃延伸 8 min, 4℃保存。

6% 聚丙烯酰胺变性凝胶分离等位基因, 恒功率 70 W, 电泳 2 h, 经 $AgNO_3$ 染色, NaOH 显影, 晾干后拍照保存。

1.5 数据分析

采用群体遗传学分析软件 Popgene32 (Version 1.31)、Excel 软件对全部位点及全部种群和个体进行遗传参数分析(孙洁茹等, 2011)。分别计算等位基因数(Na)、有效等位基因数(Ne)、观测杂合度(Ho)、期望杂合度(He)、Nei 氏期望杂合度(H)、Shannon 氏信息指数(I)、F-statistics 固定指数(F_{IS},

F_{IT}，F_{ST}）、基因流（Nm）、不同地点种群间的遗传相似性系数（S）、遗传距离（D）和多态信息含量（PIC）。

应用 MEGA 4.0 软件，基于 Nei 氏无偏差遗传距离运用 UPGMA 聚类法构建聚类图。

表 1　亚洲小车蝗采集信息

Table 1　Collecting data of *Oedaleus asiaticus* from Inner Mongolia

种群代码 Population code	采集地点 Collecting locality	地理坐标 Geo-coordinates	海拔（m） Altitude	采集日期 Collecting date
KL	开鲁县 Kailu County	43°38′19.20″N，121°34′3.12″E	240	2010-8-5
BZ	巴林左旗 Baarin Left Banner	43°47′27.99″N，119°11′32.14″E	691	2010-8-13
BY	巴林右旗 Baarin Right Banner	43°22′33.91″N，118°45′2.80″E	643	2010-8-13
KQ	克什克腾旗 Hexigten Banner	43°18′17.88″N，116°49′57.12″E	1 249	2011-8-17
DL	多伦县 Duolun County	42°02′9.49″N，116°25′1.44″E	1 324	2010-8-4
BQ	正镶白旗 Zhengxiangbai Banner	42°13′7.08″N，115°06′18.42″E	1 400	2011-8-16
HD	化德县 Huade County	41°57′31.80″N，114°03′15.42″E	1 461	2011-8-16
HQ	镶黄旗 Xianghuang Banner	42°19′21.22″N，114°04′57.12″E	1 241	2010-7-20
CH	察右后旗 Chahar Right Back Banner	41°29′50.23″N，112°29′32.33″E	1 536	2011-8-16
SQ	四子王旗 Siziwang Banner	41°46′41.04″N，111°49′38.40″E	1 419	2010-8-10
DM	达茂旗 Darhan Muminggan United Banner	41°32′44.70″N，110°32′29.70″E	1 476	2011-7-28
GY	固阳县 Guyang County	41°28′16.80″N，109°44′19.20″E	1 641	2011-7-28
WZ	乌拉特中旗 Urat Middle Banner	41°24′59.13″N，108°11′49.28″E	1 364	2010-7-23
EQ	鄂托克旗 Otog Banner	39°34′49.26″N，107°02′32.22″E	1 652	2011-7-31
AZ	阿拉善左旗 Alxa Left Banner	38°52′1.20″N，105°48′5.04″E	1 946	2011-7-30

表 2　微卫星 DNA 引物信息

Table 2　Primer information of mocrosatellite markers

位点 Locus	引物序列（5′-3′） Primer sequence	重复单位 Repeat motif	退火温度（℃） Annealing temperature
Ata35	F：CAACTATCCTCCATTGCTCCA R：CTGGTTCACCGATTCCAC	$(CYT)_{12}$	55
Ata52	F：GCCTGTGATTGGACAGGAAG R：TGCAGGCAGATACTCAGGTC	$(TCC)_5$ $(TTCR)_3$	55
Ata68	F：GCGTCAACAGAAGTCTGCAA R：AGAAGAGTGTACGCRCCTGTAAA	(GCCTCCT)	48-55
LmIOZc67	F：ATTTTGCCCAAGAAGATGCCATCA R：TTCTAGTTGGAGTCTGCAATTATC	$(GT)_{20}$	49-56
MwGTD9	F：TAAGAGCAGTCGGCACTGAG R：GGAAGAGAGACCGTGTGAGC	$(CA)_{22}$	49-56
MwGTG12	F：AGTGGCCGAGCGCTCTAT R：AATCGTCGTGTGGGAACTAC	$(GT)_{14}$	49-56
MwGTC12	F：CAGCGTTTGGCACTCTTAGC R：GATGCATGACAATGCTCGAT	$(GT)_{27}$	49-56
Phr2T	F：CGTGTCAACCGCAAAGT R：CAGAACCTGAAAATCAGCAG	$(GT)_4A(TG)_{13}$	48-55

2 结果与分析

2.1 亚洲小车蝗种群在 8 个微卫星微点的遗传多样性

由表 3 可知，亚洲小车蝗 8 个微卫星位点的等位基因数为 5 ~ 11，有效等位基因数为 3.4517 ~ 13.2881，Shannon 氏信息指数为 0.7018 ~ 4.1789，多态信息含量为 0.5601 ~ 0.8563，其中 Ata68 位点处检测到的多态信息含量最低，LmIOZc67 位点处检测到的最高，但都大于 0.5，8 个位点的平均观测杂合度为 0.5302，平均期望杂合度为 0.6711，平均 Nei 氏期望杂合度为 0.6698，说明本文所选取的 8 个微卫星位点均为高度多态性位点且显示出丰富的遗传多样性(图 1)。

15 个亚洲小车蝗种群的遗传多样性指数见表 4。结果表明，15 个种群扩增出的等位基因数为 40 ~ 58，阿拉善左旗种群最少，四子王旗种群最多；有效等位基因数为 36.8149 ~ 51.8543，阿拉善左旗种群最低，巴林右旗种群最高。15 个种群的观测杂合度在 0.0977 ~ 0.2985 之间，期望杂合度在 0.5351 ~ 0.6572 之间，Nei 氏期望杂合度在 0.5303 ~ 0.6513 之间，说明 15 个亚洲小车蝗种群都存在较高的遗传变异，鄂托克旗种群的遗传变异最大，阿拉善左旗种群的遗传变异最小。

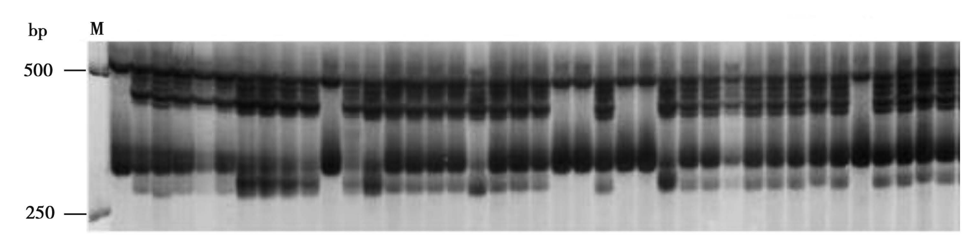


图 1 引物 Ata52 对亚洲小车蝗部分个体 DNA 扩增结果

Fig. 1 Amplification results of DNA from some individuals of *Oedaleus asiaticus* with Ata52 primer

M：DNA 分子量标准物 DNA molecular weight marker.

表 3 内蒙古亚洲小车蝗种群在 8 个微卫星位点的遗传多样性

Table 3 Genetic variation among 8 microsatellite loci of *Oedaleus asiaticus* populations in Inner Mongolia

位点 Locus	观测杂合度 Observed heterozygotes *Ho*	期望杂合度 Expected heterozygotes *He*	Nei 氏期望杂合度 Nei's expected heterozygotes *H*	多态信息含量 Polymorphism information content *PIC*	等位基因数 Number of alleles *Na*	有效等位基因数 Effective number of alleles *Ne*	Shannon 氏多样性指数 Shannon's diversity index *I*
Ata35	0.5883	0.5852	0.5840	0.8477	11	10.3127	3.2646
Ata52	0.6460	0.7623	0.7608	0.8214	10	6.2123	1.5007
LmIOZc67	0.4540	0.7144	0.7128	0.8563	15	13.2881	4.1789
MwGTD9	0.5155	0.7079	0.7059	0.7694	5	4.3959	1.1890
MwGTG12	0.4799	0.7630	0.7616	0.8243	8	7.4696	2.6145
MwGTC12	0.4951	0.7978	0.7962	0.7983	5	4.9698	1.3787
Ata68	0.4306	0.4249	0.4246	0.5601	6	3.4517	0.7018
Phr2T	0.6325	0.6129	0.6123	0.8367	11	8.5492	2.3909
平均值 Mean	0.5302	0.6711	0.6698	0.7893	8.8750	7.3312	2.1524

2.2 亚洲小车蝗种群间的遗传分化

通过对 15 个种群 8 个微卫星的 *F*-statistics 分析可知(表 5)，Ata35，Ata68 和 Phr2T 位点处检测到的近交系数为负值，表明杂合子过度，其余位点处为正值，表明杂合子缺失。群体遗传分化系数 F_{ST}为 0.0652 ~ 0.3437，LmIOZc67 位点处检测到的

F_{ST}最小，Ata68 位点处检测到的最大，均值为 0.1612，Nm 均值为 1.6164，说明不同地理种群间存在一定的基因交流，且有较大的遗传分化。

根据亚洲小车蝗 15 个种群间的遗传距离和遗传相似度可知(表 6)，15 个种群的遗传距离在 0.1092 ~0.4235 之间，镶黄旗与化德种群之间的遗传距离最小(0.1092)，巴林左旗与乌拉特中旗种群之间的遗传距离最大(0.4235)。遗传相似度在 0.6547 ~0.8965 之间，巴林左旗与乌拉特中旗种群之间的遗传相似度最小(0.6547)，镶黄旗与化德种群之间的相似度最大(0.8965)。

表 4　内蒙古亚洲小车蝗 15 个种群的种群内遗传变异统计

Table 4　Genetic variation among individuals within a population in 15 populations of *Oedaleus asiaticus* in Inner Mongolia

种群 Population	等位基因数 Number of alleles *Na*	有效等位基因数 Effective number of alleles *Ne*	观测杂合度 Observed heterozygotes *Ho*	期望杂合度 Expected heterozygotes *He*	Nei 氏期望杂合度 Nei's expected heterozygotes *H*
CH	51	44.1106 ±0.0587	0.1446 ±0.0382	0.5835 ±0.0332	0.5768 ±0.0319
SQ	50	45.3284 ±0.0655	0.2985 ±0.0490	0.6213 ±0.0370	0.6108 ±0.0352
BY	57	51.8543 ±0.0661	0.2446 ±0.0508	0.6359 ±0.0374	0.6251 ±0.0355
KQ	49	46.1874 ±0.0618	0.1486 ±0.0472	0.5442 ±0.0349	0.5382 ±0.0334
HQ	50	46.4906 ±0.0652	0.1218 ±0.0335	0.5667 ±0.0359	0.5614 ±0.0347
HD	53	50.0192 ±0.0738	0.0977 ±0.0300	0.6163 ±0.0396	0.6066 ±0.0377
EQ	46	41.8554 ±0.0632	0.2328 ±0.0389	0.6572 ±0.0346	0.6513 ±0.0332
BQ	51	44.6226 ±0.0560	0.1800 ±0.0408	0.5703 ±0.0326	0.5650 ±0.0316
GY	44	40.2147 ±0.0644	0.1849 ±0.0529	0.5752 ±0.0361	0.5671 ±0.0343
DM	52	49.1790 ±0.0735	0.2245 ±0.0602	0.6501 ±0.0402	0.6376 ±0.0381
BZ	53	46.7948 ±0.0640	0.1943 ±0.0409	0.5993 ±0.0351	0.5927 ±0.0339
DL	58	51.6084 ±0.0636	0.2206 ±0.0472	0.6147 ±0.0358	0.6052 ±0.0341
WZ	46	43.3725 ±0.0660	0.1181 ±0.0408	0.5554 ±0.0360	0.5502 ±0.0347
AZ	40	36.8149 ±0.0585	0.1617 ±0.0499	0.5351 ±0.0329	0.5303 ±0.0317
KL	52	47.6337 ±0.0675	0.2305 ±0.0473	0.6078 ±0.0370	0.6005 ±0.0357
平均值 Mean	50.1333	45.7391 ±4.0198	0.1735 ±0.0440	0.5889 ±0.0336	0.5813 ±0.0315

表中数据为平均值 ± 标准误。The data in the table are mean ± *SE*.

表 5　*F*-statistics 统计分析结果以及基因流 *Nm*

Table 5　Results of *F*-statistics analysis and the gene flow *Nm*

位点 Locus	群体内近交系数 F_{IS}	群体间分化系数 F_{ST}	基因流 Gene flow *Nm*
Ata35	-0.0053	0.1338	1.6192
Ata52	0.1525	0.1518	1.3969
LmIOZc67	0.3645	0.0652	3.5836
MwGTD9	0.2718	0.1440	1.4865
MwGTG12	0.3711	0.1563	1.3492
MwGTC12	0.3795	0.1760	1.1702
Ata68	-0.0134	0.3437	0.4773
Phr2T	-0.0320	0.1192	1.8479
平均值 Mean	0.1816	0.1612	1.6164

2.3　亚洲小车蝗种群的聚类分析

用 MEGA 4.0 软件根据 Nei 氏无偏遗传距离利用 UPGMA 法对亚洲小车蝗 15 个种群进行聚类分析，得聚类图(图 2)。15 个不同地点的亚洲小车蝗种群共聚为 6 支：第 1 支，巴林左旗种群首先与距离最近的巴林右旗种群聚在一起，再与相邻的开鲁种群相聚；第 2 支，化德种群与镶黄旗种群聚在一起，再与正镶白旗种群相聚，再与聚在一起的克什克腾旗种群和多伦种群相聚；第 3 支，察右后旗种群和四子王旗种群聚在一起；第 4 支，固阳种群与达茂旗种群相聚，再与乌拉特中旗种群聚在一起；第 5 支，鄂托克旗种群；第 6 支，阿拉善左旗种群。

表 6 内蒙古亚洲小车蝗 15 个地理种群间的遗传距离和遗传相似度系数

Table 6 Genetic distance and genetic similarity index among 15 populations of *Oedaleus asiaticus* in Inner Mongolia

种群 Population	CH	SQ	BY	KQ	HQ	HD	EQ	BQ	GY	DM	BZ	DL	WZ	AZ	KL
CH	–	0.8560	0.8141	0.8173	0.7984	0.8170	0.7983	0.7655	0.8036	0.7720	0.7337	0.7847	0.8147	0.7808	0.7478
SQ	0.1555	–	0.8028	0.7072	0.7840	0.7847	0.7134	0.7367	0.7689	0.8254	0.7425	0.7791	0.7670	0.7024	0.7594
BY	0.2056	0.2196	–	0.7407	0.8342	0.8409	0.7760	0.8662	0.7609	0.8652	0.8721	0.8247	0.7815	0.7669	0.8596
KQ	0.2017	0.3465	0.3002	–	0.8346	0.8392	0.8046	0.7570	0.8079	0.7122	0.6997	0.8406	0.7871	0.7420	0.7201
HQ	0.2251	0.2434	0.1813	0.1808	–	0.8965	0.8145	0.8603	0.8652	0.8552	0.7711	0.8424	0.7720	0.8163	0.7560
HD	0.2021	0.2425	0.1733	0.1753	0.1092	–	0.8227	0.8650	0.8009	0.8141	0.8261	0.8702	0.7264	0.7538	0.7570
EQ	0.2252	0.3377	0.2536	0.2174	0.2051	0.1951	–	0.7195	0.7169	0.7452	0.7656	0.7339	0.7562	0.6955	0.7335
BQ	0.2673	0.3056	0.1437	0.2784	0.1505	0.1450	0.3292	–	0.7685	0.7982	0.7791	0.8053	0.7420	0.8290	0.7876
GY	0.2186	0.2628	0.2732	0.2133	0.1448	0.2221	0.3328	0.2633	–	0.8722	0.6871	0.7807	0.8208	0.7646	0.7164
DM	0.2588	0.1919	0.1448	0.3394	0.1564	0.2057	0.2941	0.2254	0.1368	–	0.7736	0.8108	0.8294	0.7340	0.8138
BZ	0.3097	0.2977	0.1369	0.3571	0.2600	0.1910	0.2671	0.2496	0.3753	0.2567	–	0.7923	0.6547	0.7199	0.8006
DL	0.2424	0.2497	0.1927	0.1737	0.1715	0.1390	0.3093	0.2165	0.2476	0.2097	0.2328	–	0.7571	0.7791	0.8131
WZ	0.2049	0.2652	0.2465	0.2394	0.2588	0.3196	0.2795	0.2984	0.1974	0.1871	0.4235	0.2783	–	0.7390	0.7507
AZ	0.2474	0.3532	0.2654	0.2983	0.2030	0.2826	0.3631	0.1875	0.2684	0.3093	0.3286	0.2497	0.3024	–	0.7156
KL	0.2906	0.2752	0.1513	0.3283	0.2797	0.2784	0.3099	0.2388	0.3335	0.2061	0.2224	0.2069	0.2867	0.3346	–

对角线上方为遗传相似度系数，对角线下方为遗传距离。Genetic similarity index is above the diagonal, while the genetic distance is below the diagonal.

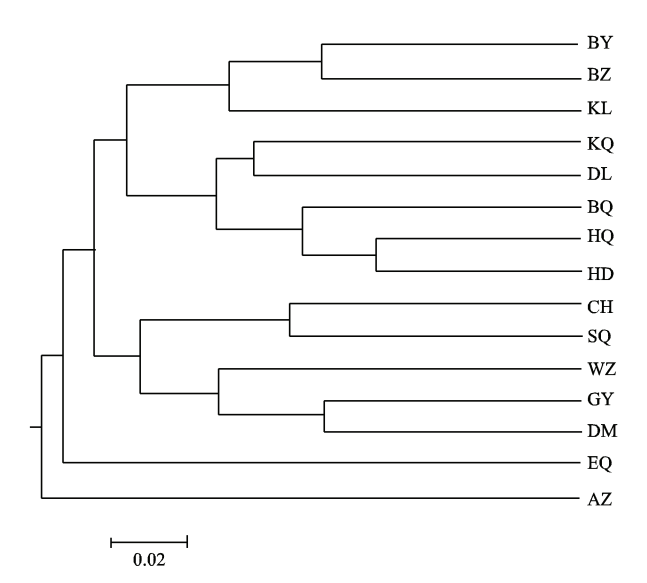


图 2 内蒙古亚洲小车蝗 15 个种群间基于 Nei 氏无偏差遗传距离的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram for 15 populations of *Oedaleus asiaticus* in Inner Mongolia based on Nei's unbiased genetic distance

种群代码同表 1。Population codes are the same as in Table 1.

2.4 遗传距离与地理距离的相关性分析

使用 TFPGA 软件对亚洲小车蝗 15 个种群的遗传距离和地理距离进行 Mantel 测定(图 3)，回归方程为 $y = 2\ 129.5x - 24.736$，相关系数 $r = 0.4244$ ($P = 0.001 < 0.01$)。由此可见，内蒙古地区亚洲小车蝗种群间的遗传距离与其地理距离呈极显著相关关系。

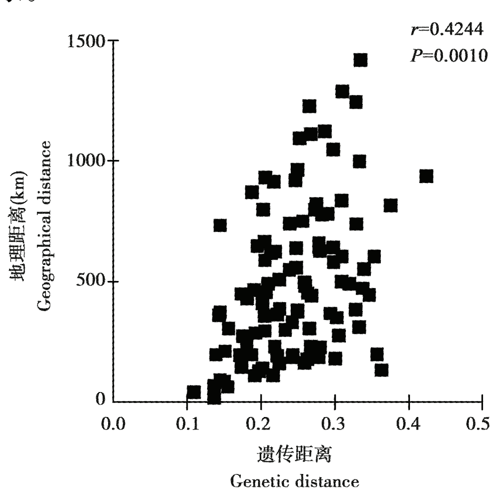


图 3 内蒙古亚洲小车蝗 15 个种群的遗传距离与地理距离间的回归分析

Fig. 3 Regression analysis between genetic distance and geographical distance among 15 populations of *Oedaleus asiaticus* in Inner Mongolia

3 讨论

3.1 亚洲小车蝗种群内的遗传多样性

张娜娜等(2012)认为，每个微卫星位点要想作为评估遗传多样性的初步标准必须能够扩增出不少于 4 个等位基因。有效等位基因数也是体现种群遗传分化程度一个指标，但是等位基因数和有效等位基因数受样本量的影响(Maudet *et al.*, 2002)，会随着样本数量的增加而增加(闫路娜和张德兴，2004)。本研究所使用的 8 个微卫星位点所扩增出的等位基因均大于 4 个，平均有效等位基因数为 7.3312，说明 8 个位点均可作为评估遗传多样性的标准，具有较高的基因丰富度和遗传变异度，且本文的样本量能够满足遗传多样性分析的要求。

多态信息含量(*PIC*)是遗传多样性的度量指标，其值越大，说明基因丰富度越高。Botstein 等(1980)提出，当 $PIC > 0.5$ 时，该基因位点为高度多态性位点；当 $0.5 > PIC > 0.25$ 时，该位点为中度多态性位点；当 $PIC < 0.25$ 时，该位点为低度多态性位点。本文所选用的 8 个微卫星位点检测到的 *PIC* 值均大于 0.5，说明这 8 个位点均为高度多态性位点，都能为遗传多样性的分析提供充足信息。其中 LmIOZc67 位点处检测到的多态性最高，为 0.8563；Ata68 位点处检测到的多态性最低，为 0.5601。实验证明，不同的位点对种群的多态性表现不同，进一步说明了实验前期对于微卫星引物筛选的重要性。

杂合度的大小可反映遗传变异程度的高低，杂合度越高说明该群体内遗传变异越大，反之则群体内的遗传变异越小(杨建宝等，2012)。Takezaki 和 Nei(1996)提出，微卫星计算出的杂合度在 0.3 ~ 0.8之间则可以说明群体有遗传多样性。本文中亚洲小车蝗种群的平均期望杂合度为 0.5889，说明本文所选取的 15 个亚洲小车蝗种群均显示出了较高的遗传变异水平和丰富的遗传多样性。阿拉善左旗种群最低为 0.5351，鄂托克旗种群最高为 0.6572。但李东伟等(2010)的研究结果与本文结果正好相反，阿拉善左旗种群的遗传多样性最高。我们认为本文的结果更有说服力，因为亚洲小车蝗阿拉善左旗种群采集地东面为贺兰山，其他三面为荒漠戈壁，而且与亚洲小车蝗主要发生区(中东部)相距遥远，减少了与其他地区的基因交流，从而导致其种群内部遗传变异减少、多样性降低。因此，与 RAPD 方法相比，SSR 方法能更好地反映种群的遗传变异和多样性。

3.2 亚洲小车蝗种群间的遗传分化

Weir 和 Cockerham(1984)提出，$F_{IS} > 0$，表明杂合子缺失；$F_{IS} < 0$，表明杂合子过度。本文 8 个微卫星位点中 Ata35，Ata68 和 Phr2T 位点表现为杂合子过度，可能是因为群体性别比例失衡和人为干扰导致稀有碱基的缺失造成的。

群体间分化系数 *Fst* 是反映群体间遗传分化的重要指标。Wright(1978)指出，$F_{ST} < 0.05$，说明种群间分化很弱；$0.05 < F_{ST} < 0.15$，表示种群中等分化；$0.15 < F_{ST} < 0.25$，表示种群遗传分化较大。本文中 F_{ST}平均值为 0.1612，说明 15 个种群的遗传分化较大，群体中有 16.12% 的变异来自种群间，83.88% 的变异来源于不同个体间。李东伟等(2010)的结果与本文相似，20.97% 的变异来自种群间，79.03% 的变异来源于不同个体间。后者个体间的变异低于本文的，可能是后者每个种群的样本量(10 头)少于本文样本量(20 头)。因为一般随着样本量的增加，基因丰富度增加(闫路娜和张德兴，2004)。因此，进行种群遗传多样性研究时，必须保证足够的样本量。否则，研究结果的可靠性不足。

由于基因的相互交流会增加种群内的遗传变异，从而减少种群间的分化(Whitlock and McCauley, 1999)。所以，基因流 *Nm* 的存在是影响种群间遗传分化的重要因素。Slatkin(1987)认为，种群间的基因流可以阻止完全的基因固定和遗传分化。本文中 Ata68 位点检测到的 *Nm* 值小于 1，说明在 Ata68 位点上亚洲小车蝗群体的遗传分化低，其他的 7 个位点上 $1 < Nm < 4$，说明不同种群间基因交流处于中等水平。这说明虽然亚洲小车蝗具有较强的迁移扩散能力(蒋湘等，2003)，但由于高山、沙漠等地理障碍作用，从而使亚洲小车蝗不同种群间基因交流处于中等水平。

3.3 聚类分析及遗传分化与地理距离的相关性分析

15 个不同地点的亚洲小车蝗种群共聚为 6 支。第 1 支，巴林左旗种群首先与距离最近的巴林右旗种群聚在一起，再与相邻的开鲁种群相聚；第 2 支，化德种群与镶黄旗种群聚在一起，再与正镶白旗种群相聚，再与聚在一起的克什克腾旗种群和多伦种群相聚；第 3 支，察右后旗种群和四子王旗种群聚在一起；第 4 支，固阳种群与达茂旗种群相聚，再

与乌拉特中旗种群聚在一起；第 5 支，鄂托克旗种群；第6 支，阿拉善左旗种群。第 1 支的巴林左旗、巴林右旗和开鲁种群与其他种群被大兴安岭隔开，且采集地海拔高度均低于 1 000 m，可能是造成与其他地区种群形成遗传分化的主要原因；第 2 支的 5 个种群位于大兴安岭以西和浑善达克沙地以南；第 3 支的 2 个种群和第 4 支的 3 个种群均位于阴山山脉以北；第 5 支的鄂托克旗种群位于贺兰山以东、阴山山脉和黄河以南；第 6 支的阿拉善左旗种群位于贺兰山以西。因此，高山和沙漠对不同地区亚洲小车蝗种群的迁移具有阻碍作用，可能是形成遗传分化的主要原因。

本文研究表明种群间遗传分化与地理距离呈正相关关系，这与大多数研究结果相一致(李春选等，2004；张民照和康乐，2005；李东伟等，2010)。但孙洁茹等(2011)采用 SSR 标记分析了中国梨木虱 *Cacopsylla chinensis* 种群的遗传多样性，结果表明中国梨木虱种群遗传距离与地理距离无明显的相关关系，说明中国梨木虱种群间的基因交流并未受到地理距离的限制。中国梨木虱各种群间基因交流频繁，遗传分化很低，可能与中国梨木虱随苗木各地引种而迁移有关。因此，我们认为对于亚洲小车蝗等主要通过自然迁移扩散的种类、地理距离、高山和沙漠等地理障碍是限制其种群间基因交流，导致遗传分化较高的主要原因。本文结果进一步说明种群间遗传分化主要取决于地理邻近性(geographic proximity)的作用(Scribner *et al*., 1986)。

参考文献(References)

Aguirre MP, Bloor P, Escobar UR, Ortego J, Cordero PJ, 2010. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in the grasshopper *Mioscirtus wagneri* (Orthoptera: Acrididae). *Conservation Genetics*, 11(3): 1119 –1121.

Berthier K, Loisesu A, Streife R, Arlettaz R, 2008. Eleven polymorphic microsatellite markers for *Oedaleus decorus* (Orthoptera: Acrididae), an endangered grasshopper in Central Europe. *Molecular Ecology Resources*, 8: 1363 –1366.

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314 –331.

Chen SH, Wulanbater, Wu XD, 2007. Response of grasshoppers subsistence and breeding to climatic change in Inner Mongolia. *Journal of Natural Disasters*, 16(3): 66 –69. [陈素华，乌兰巴特尔，吴向东，2007. 内蒙古草地蝗虫生存与繁殖对气候变化的响应. 自然灾害学报，16(3): 66 –69]

Contreras-Díaz HG, López H, Oromí P, Juan C, 2006. Microsatellite loci development in endangered pamphagid grasshoppers endemic to the Canary Islands (Orthoptera). *Conservation Genetics*, 7(5): 767 –771.

Gao SJ, Li DW, Liu AP, Yan ZJ, Chang XQ, 2010. Allozyme analysis on genetic diversity of eight geographical populations of *Oedaleus asiaticus* in Inner Mongolia. *Chinese Journal of Ecology*, 29(10): 1967 – 1972. [高书晶，李东伟，刘爱萍，闫志坚，常秀青，2010. 亚洲小车蝗不同地理种群遗传多样性的等位酶分析. 生态学杂志，29(10): 1967 –1972]

Gao SJ, Li DW, Liu AP, Yan ZJ, Xu LB, 2011a. Sequence analysis of mtDNA COⅠ gene and relationships of geographical populations of *Oedaleus asiaticus* in Inner Mongolia. *Acta Agrestia Sinica*, 19(5): 846 – 851. [高书晶，李东伟，刘爱萍，闫志坚，徐林波，2011a. 不同地理种群的亚洲小车蝗 mtDNA COⅠ基因序列及其相互关系. 草地学报，19(5): 846 –851]

Gao SJ, Liu AP, Han JL, Yan ZJ, Xu LB, Li DW, 2011b. Sequence analysis of mtDNA ND1 gene and relationships of geographical populations of *Oedaleus asiaticus*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(4): 811 –819. [高书晶，刘爱萍，韩静玲，闫志坚，徐林波，李东伟，2011b. 不同地理种群的亚洲小车蝗 mtDNA ND1 基因序列及其相互关系. 应用昆虫学报，48(4): 811 –819]

Gao ZQ, Liu XJ, Rong R, Gao JQ, Tong W, Zhang LF, Wang YR, Xiang ZG, Liu YB, 2012. Genetic analysis for three closed laboratory rabbit colonies using microsatellite loci. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 20(2): 26 –31. [高子淇，刘先菊，荣蓉，高进权，佟巍，张丽芳，王艳蓉，向志光，刘云波，2012. 实验兔三个封闭群微卫星 DNA 多态性遗传分析. 中国实验动物学报，20(2): 26 –31]

Guan JQ, Wei ZZ, 1989. Feed intake measurement of *Oedaleus asiaticus*. *Entomological Knowledge*, 26(1): 8 –10. [关敬群，魏增柱，1989. 亚洲小车蝗食量测定. 昆虫知识，26(1): 8 –10]

Huang BQ, Zeng QH, Yin D, 1996. Molecular approaches in studies of genetic diversity. *Journal of Northeast University* (*Natural Science Edition*), (3): 90 –92. [黄百渠，曾庆华，尹东，1996. 遗传多样性研究中的分子生物学方法. 东北师大学报(自然科学版)，(3): 90 –92]

Jiang X, Maimaitiming, Zhang L, 2003. Nocturnal migration of grasshopper (Acrididae: *Odedaleus asiaticus*). *Acta Agrestia Sinica*, 11(1): 75 –77. [蒋湘，买买提明，张龙，2003. 夜间迁飞的亚洲小车蝗. 草地学报，11(1): 75 –77]

Kang L, Chen YL, 1995. Dynamics of grasshopper communities under different grazing intensities in Inner Mongolia steppes. *Entomologia Sinica*, 2: 265 –281.

Li CX, Ma EB, Zheng XY, Guo YP, 2004. Genetic structure of four geographic populations of *Locusta migratoria manilensis* in China. *Acta Entomologia Sinica*, 47(1): 73 –79. [李春选，马恩波，郑先云，郭亚平，2004. 中国东亚飞蝗四个地理种群遗传结构的比较研究. 昆虫学报，47(1): 73 –79]

Li DW, Gao SJ, Pang BP, Liu AP, Yan ZJ, Xu LB, 2010. The genetic divergence of nine populations of *Oedaleus asiaticus* in Mongolia based on RAPD. *Chinese Bulletin of Entomology*, 47(3): 472 – 478. [李东伟，高书晶，庞保平，刘爱萍，闫志坚，徐林波，

2010. 内蒙古地区亚洲小车蝗不同地理种群的 RAPD 分析. 昆虫知识, 47(3): 472 - 478]

Maudet C, Miller C, Bassano B, Breitenmoser-Würsten C, Gauthier D, Obexer-Ruff G, Michallet J, Taberlet P, Luikart G, 2002. Microsatellite DNA and recent statistical methods in wild conservation management: application in *Alpine ibex* [*Capra ibex* (*ibex*)]. *Molecular Ecology*, 11(3): 421 - 436.

Scribner KT, Evans JE, Morreale SJ, Smith MH, Gibbons JW, 1986. Genetic divergence among populations of the yellow-bellied slider turtle (*Pseudemys scripta*) separated by aquatic and terrestrial habitats. *Copeia*, 3: 691 - 700.

Slate J, Visscher PM, MacGregor S, 2002. A genome scan for quantitative trait loci in a wild population of red deer (*Cervus elaphus*). *Genetics*, (162): 1863 - 1873.

Slatkin M, 1987. Gene flow and the geographic structure of natural population. *Science*, 236: 787 - 792.

Streiff R, Audiot P, Foucart A, Lecoq M, Rasplus JY, 2005. Genetic survey of two endangered grasshopper subspecies, *Prionotropis hystrix rhodanica* and *Prionotropis hystrix azami* (Orthoptera, Pamphagidae): within- and between-population dynamics at the regional scale. *Conservation Genetics*, 7: 331 - 344.

Sun JR, Li Y, Yan S, Zhang QW, Xu HL, 2011. Microsatellite marker analysis of genetic diversity of *Cacopsylla chinensis* (Yang *et* Li) (Hemiptera: Psyllidae) populations in China. *Acta Entomologica Sinica*, 54(7): 820 - 827. [孙洁茹, 李燕, 闫硕, 张青文, 徐环李, 2011. 微卫星标记分析中国梨木虱种群的遗传多样性. 昆虫学报, 54(7): 820 - 827]

Tai LH, Jia JY, Wang TN, Nengnaizhabu, Bao YH, 2011. A study of genetic diversity on three populations of *Oedaleus decorus asiaticus* Bei-Bienko in mid-eastern Inner Mongolia. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 26(1): 122 - 126. [邰丽华, 贾建宇, 王塔娜, 能乃扎布, 包玉海, 2011. 内蒙古中东部地区亚洲小车蝗 3 个种群的遗传多样性分析. 华北农学报, 26(1): 122 - 126]

Takezaki N, Nei M, 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 144(1): 389 - 399.

Ustinova J, Achmann R, Cremer S, Mayer F, 2006. Long repeats in a huge genome: microsatellite loci in the grasshopper *Chorthippus biguttulus*. *Molecular Evolution*, 62: 158 - 167.

Weir BS, Cockerham CC, 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358 - 1370.

Whitlock MC, McCauley DE, 1999. Indirect measures of gene flow and migration: $F_{ST} \neq 1/(4Nm+1)$. *Heredity*, 82: 117 - 125.

Wright S, 1978. Evolution and the Genetics of Populations (Vol. 4): Variability Within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago and London.

Xu FZ, Meng ZP, Guo YH, Shen JP, Han CZ, 2005. Occurrence and control of *Oedaleus asiaticus* in the farming and pasturing transitional ecotone of Wulanchabu City. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*, (7): 384 - 387. [许富祯, 孟正平, 郭永华, 申集平, 韩常在, 2005. 乌兰察布市农牧交错区亚洲小车蝗发生与防治. 内蒙古农业科技, (7): 384 - 387]

Yan LN, Zhang DX, 2004. Effects of sample size on various genetic diversity measures in population genetic study with microsatellite DNA markers. *Acta Zoologica Sinica*, 50(2): 279 - 290. [闫路娜, 张德兴, 2004. 种群微卫星 DNA 分析中样本量对各种遗传多样性度量指标的影响. 动物学报, 50(2): 279 - 290]

Yang JB, Zhang YP, Su JH, Lou ZY, Jiao WL, Wang T, Wei YM, 2012. Genetic analysis of cultured *Salvelinus fontinalis* in China inferred from microsatellites. *Sichuan Journal of Zoology*, 31(3): 348 - 352. [杨建宝, 张艳萍, 苏军虎, 娄忠玉, 焦文龙, 王太, 魏彦明, 2012. 引进美洲红点鲑群体遗传多样性微卫星的分析. 四川动物, 31(3): 348 - 352]

Yao I, Tatsuta H, Akimoto S, 2006. Isolation of six microsatellite markers from apterous grasshopper *Podisma kanoi* (Orthoptera: Podisminae). *Molecular Ecology*, 6: 1067 - 1069.

Zhang DX, Yan LN, Ji YJ, Kang L, Hewitt GM, Huang ZS, 2003. Isolation, characterization and cross-species amplification of eight microsatellite DNA loci in the migratory locust (*Locusta migratoria*). *Molecular Ecology Notes*, 3: 483 - 486.

Zhang L, Yan YH, Wang GQ, Zhang ZR, Pan JM, Yang Z, 1995. A preliminary survey on the epizootics of infection of *Nosema locustae* among grasshoppers in rangeland. *Acta Agrestia Sinica*, 3(3): 223 - 229. [张龙, 严毓骅, 王贵强, 张卓然, 潘建梅, 杨珍, 1995. 蝗虫微孢子虫病田间流行的初步调查. 草地学报, 3(3): 223 - 229]

Zhang MZ, Kang L, 2005. Genetic differentiation of geographic populations of *Locusta migratoria* in China. *Science in China* (*Series C: Life Science*), 35(3): 220 - 230. [张民照, 康乐, 2005. 飞蝗(*Locusta migratoria*) 地理种群在中国的遗传分化. 中国科学 (C 辑: 生命科学), 35(3): 220 - 230]

Zhang NN, Wang YQ, Wang QY, Wang ZB, Zhang XH, Bai JY, Mao W, 2012. Analysis on the genetic diversity of 9 microsatellite loci in Taihang native goat. *Chinese Journal of Animal Science*, 48(3): 18 - 21. [张娜娜, 王玉琴, 王清义, 王占彬, 张小辉, 白俊艳, 毛薇, 2012. 9 个微卫星基因座在太行黑山羊中的遗传多样性研究. 中国畜牧杂志, 48(3): 18 - 21]

Zhu XJ, Xu XJ, Zhou SJ, Wu XD, Zhou BF, 2011. Genetic analysis of *Apis cerana cerana* in Wuyi Mountain Nature Reserve based on microsatellite DNA. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 26(6): 935 - 940. [朱翔杰, 徐新建, 周姝婧, 吴显达, 周冰峰, 2011. 武夷山自然保护区中华蜜蜂微卫星 DNA 遗传分析. 福建农业学报, 26(6): 935 - 940]

(责任编辑: 武晓颖)